



ペプチド修飾グラフェン電界効果トランジスタを用いた 匂い分子の高感度センシング

ー グラフェン匂いセンサの実用化に大きな弾みー

【要点】

- 匂い分子と相互作用するアミノ酸配列を追加したペプチドで、グラフェンセンサ表面を修飾。
- 検出が難しい匂い分子を高感度に検出することに成功。
- 各種匂い分子に対するグラフェン匂いセンサの電気応答を主成分分析し、匂い分子の判別に成功。
- ペプチドを複数配列したペプチドアレイセンサによる、より選択性の高い匂いセンシングシステムの実現に期待。

【概要】

東京工業大学 物質理工学院 材料系の本間千柊大学院生（博士後期課程 2 年）、大河内美奈教授、および早水裕平准教授らは、**ペプチド**（用語 1）の**自己組織化**（用語 2）膜を利用したグラフェン匂いセンサで、複数の匂い分子を高感度で検出することに成功した。

人間の臭覚と同等の機能を持つ匂いセンサの開発は、人間の五感の中でも実現が難しく、さまざまな匂い分子に選択的かつ高感度に反応するセンサの開発が期待されてきた。**グラフェン電界効果トランジスタ**（GFET、用語 3）を用いたセンシングは、その高い感度から匂いセンサとしての応用が注目されているが、高感度で匂いを嗅ぎ分けられる実用的な匂いセンサの実現には、グラフェン表面の分子感応膜の開発が課題とされてきた。

本研究では、標的分子に特異的に反応する新規ペプチドを設計し、ペプチドを修飾したグラフェンセンサの特性解析を行った。3 種類のペプチドで GFET を修飾し、植物由来の匂い分子であるリモネン、サリチル酸メチル、メントールへの応答を解析したところ、電気伝導度の時間変化から、それぞれの GFET が匂い分子に対して特異的な応答を示すことがわかった。さらに、**主成分分析**（用語 4）によってそれぞれの匂いの判別に成功した。

今回の研究で、ペプチドを用いたグラフェン匂いセンサを実証したことにより、将来的にペプチドを複数配列したペプチドアレイセンサを構築し、より多様な匂いに対して選択的な感度を持つセンシングシステムを実現するための道が開かれた。

この研究成果は「*Biosensors and Bioelectronics*」のオンライン版にて、現地時間 2022 年 12 月 23 日に掲載された。

●背景

グラフェン電界効果トランジスタ（GFET）を用いたガスセンシングは、その高い感度から、ヘルスケア、環境モニタリング、食品、化粧品などの分野でさまざまな匂い分子を検出するシステムとして期待が広がっている。実用的な匂いセンサの実現にはまず、高感度で特定の匂い分子を判別できる標的選択性の高いセンサの実現が必要となるが、同時に安価で安定に動作するシステムの構築も必須である。これまで、生物の嗅覚受容体タンパク質を使用して、匂い分子を高感度かつ高選択に検出するグラフェンセンサが実現されている [参考文献 1]。一方で、タンパク質を使用した場合には、センサを安価で安定動作させることが困難になるという問題が残されていた。この問題を克服する手段としては、タンパク質の機能を模倣した合成分子を用いたグラフェンの機能化技術の開発が考えられる。

早水准教授らのグループではこれまでの研究で、グラファイトなどの層状物質の表面で稠密な秩序構造へと自己組織化するペプチドの開発とその評価を行ってきた [参考文献 2-4]。これらのペプチドは、水溶液中で分散した状態から、自発的にグラファイト表面に吸着し、表面での拡散やペプチド間の相互作用を経て、秩序構造へと自己組織化していくことが知られている。なかでも絹糸タンパク質を模倣したペプチドは、 β シート構造を形成し、グラファイト表面で構造安定な自己組織化膜を形成する [参考文献 2]。このペプチドに匂い分子と相互作用するアミノ酸配列を追加したペプチドを、単層物質であるグラフェン表面に固定化することにより、匂い分子に対して感度を持つグラフェンセンサの実現が期待できる。

●研究成果

1. ペプチドの電極表面での自己組織化

本研究では、グラフェンを機能化するペプチドとして、1種類の分子足場ペプチドと、2種類のプローブペプチド（P1、P2）の合計3種類のペプチドを設計した（図 1a）。これらのペプチドを用いて、植物の香りを特徴づける3種類の匂い分子（図 1b）をグラフェン電界効果トランジスタ（GFET）によって検出することを目指した。設計されたペプチドは、グリシン（G）およびアラニン（A）の繰り返しアミノ酸配列を含む分子足場ドメインを有する。この足場ドメインは、分子間水素結合によって β シート構造を形成し、グラファイト表面上の分子膜を安定化させることが報告されている [参考文献 3]。本研究では、この分子足場配列に匂い分子と結合するプローブドメイン配列を共役させることで、匂い分子と特異的に相互作用する感応膜をグラフェン上に構築した。これらのペプチドは、共通する足場ドメインを使って、グラフェン表面で共自己組織化する。すなわち水溶液中でグラフェンに自発的に吸着・拡散し、単分子膜厚の秩序構造へと姿を変える（図 1c）。

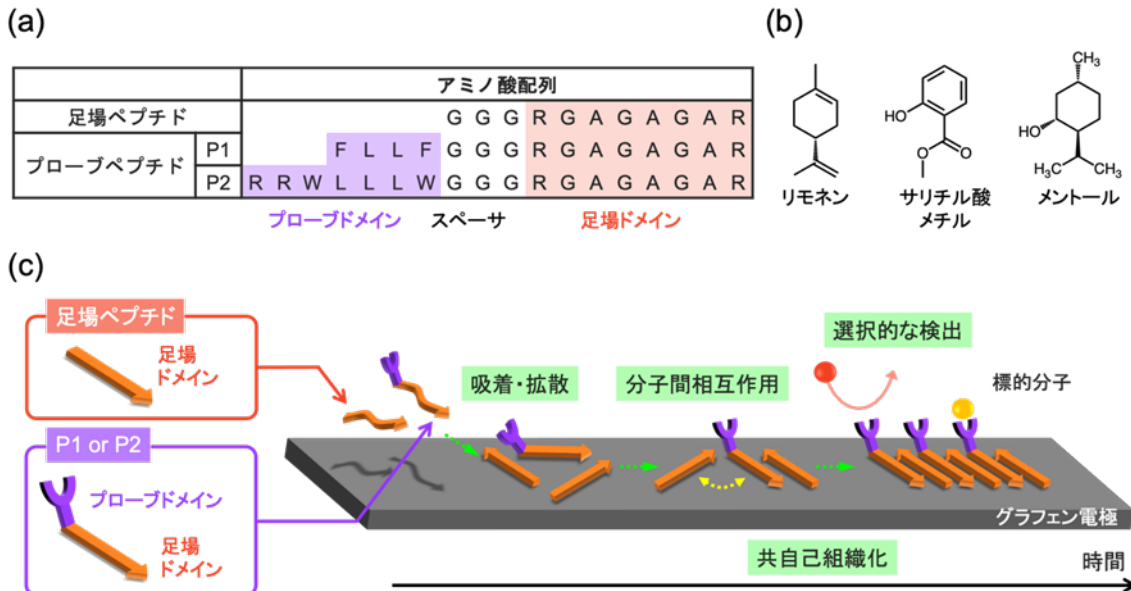


図 1 (a)本研究で用いた 3 種類のペプチドのアミノ酸配列。(b)標的匂い分子の構造。
(c)グラフェン表面でのペプチドの共自己組織化過程の模式図。

本研究で使用したペプチドは、グラフェン表面で秩序ある均一なナノ構造を形成した (図 2a)。それぞれのペプチドで修飾された GFET で、ペプチド修飾前後の電気伝導特性を調べたところ、これらのペプチドによってグラフェン中の電子濃度が増加していることがわかった (図 2b)。さらに、トランジスタのセンサ感度を決定づける相互コンダクタンスのペプチド修飾による減少は 8 %未満であり、ペプチド薄膜がバイオセンシングに向けたトランジスタの性能を低下させないことが証明された。これは、他の自己組織化ペプチドを用いた最近の報告と一致する [参考文献 4]。

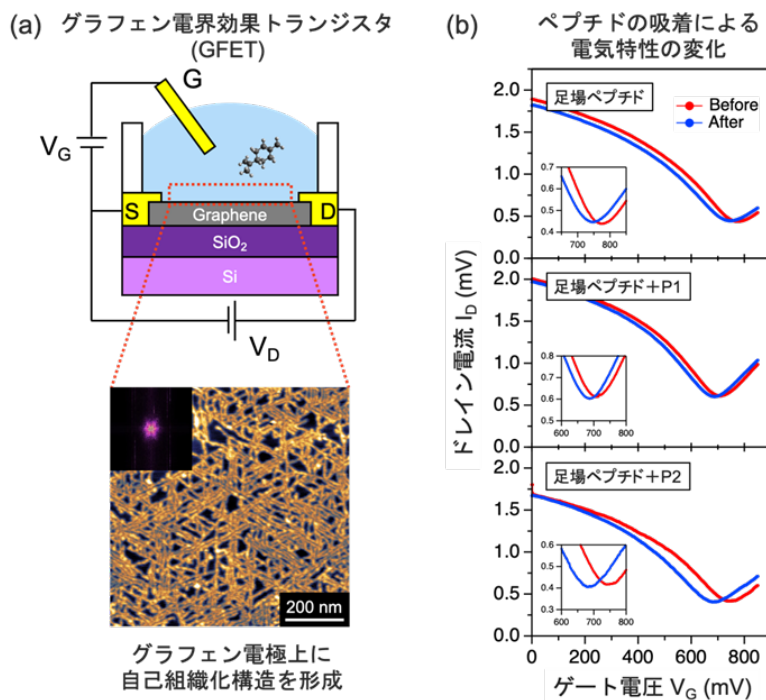


図 2 (a)グラフェン電界効果トランジスタ (GFET) の模式図とグラフェン電極表面におけるペプチドの自己組織化構造。(b)ペプチドの吸着による GFET のゲート特性の変化。

2. 標的分子に対する電気信号の評価

次に、標的分子に対するペプチド修飾 GFET の感度を、リモネンの濃度変化に対する電気伝導度の時間変化から評価した (図 3a)。リモネンの濃度は 10 pM から 10 nM と非常に低濃度であったが、どの濃度においても電気伝導度の変化は非常に早く、センサ表面が短時間で平衡状態に達したことを示した。また電気伝導度の変化は、全てのペプチドにおいて、リモネン濃度の増加とともに単調に変化した。さらに、電気伝導度変化の絶対値を濃度に対してプロットすると、特に低濃度領域において、ペプチド間に絶対値の明らかな差がみられたことから (図 3b)、ペプチドのアミノ酸配列によって、リモネンへの時間応答が如実に変化することが明らかになった。

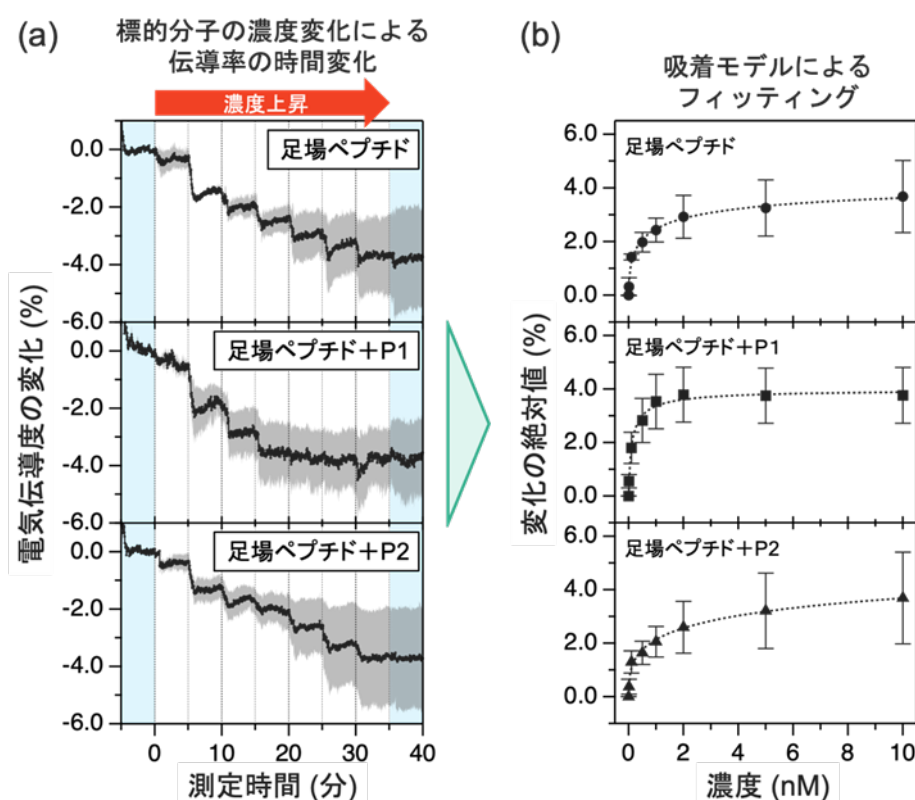
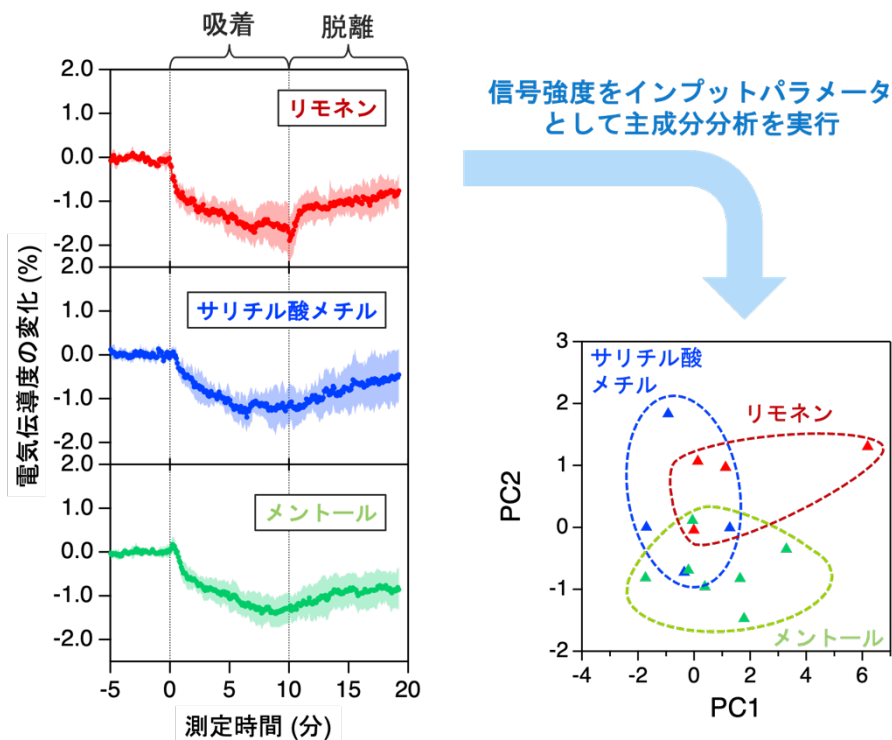


図 3 (a) リモネンの吸着に対する電気伝導度の変化。縦軸は電流の変化率、横軸は時間。

(b) 各濃度のリモネンにおける GFET の電気伝導度の変化と Hill の式によるフィッティング。

3. 主成分分析 (PCA) を用いた各標的分子の分類

さらに、各ペプチド感応膜の標的分子に対する電気応答の特徴を区別するために、ペプチドの標的分子に対する吸着および脱離過程における電気伝導度の変化を調べ、主成分分析 (PCA) を行った (図 4a)。PCA の入力パラメータには、吸脱着速度に関する情報を与える電気信号を用いた。この PCA の結果をプロットしたところ、それぞれの匂い分子がプロット内の異なる位置に分布した (図 4b)。このことから、各ペプチドを用いたグラフェン匂いセンサが 3 種類の匂い分子を認識していることが明らかとなった。



(a) 各標的分子の吸着・脱離による電気伝導度の時間変化

(b) 主成分分析を用いて各標的分子についてクラスター分類

図4 主成分分析 (PCA) によるクラスター分類。

●社会的インパクト

哺乳類は、嗅神経細胞上に発現する嗅覚受容体 (OR) によって匂い分子を検出する。さまざまな匂いを感知するために、ヒトとマウスはそれぞれ約 400 種と 1,200 種の OR を持つとされており、OR とセンシングデバイスを組み合わせた**バイオエレクトロニックノーズ (電子鼻、用語5)**の開発に向けて、これまでさまざまな挑戦がなされてきた。しかし、OR の入手が困難であることや、長期的な安定性が低いことなどが開発の障害となっている。また、任意の OR を作り出して応用することはそう簡単ではなく、その結果、ほとんどのバイオエレクトロニックノーズは、ラット、ヒト、昆虫などで知られている数少ない OR を使用して開発されてきた。

一方、本研究で使用するペプチドの場合は、匂い分子に対して特有の応答を示すペプチドを、化学合成によって任意のアミノ酸配列で合成できることから、多種多様な匂い分子に応答可能なセンサの開発が期待できる。さらに、タンパク質受容体に比べてペプチドの長期安定性が高いと考えられるため、匂いセンサとしての用途が広がることが期待できる。

こうしたペプチドの利用によって、生物の嗅覚を司る新たなセンサが実現すれば、ヘルスケア、環境モニタリング、食品、化粧品などさまざまな分野での活用が見込まれる。

●今後の展開

本研究では、GFET を自己組織化ペプチドで機能化することで、匂い分子に対して選択的に電氣的応答を検出することを実証した。ペプチドは天然のタンパク質と比較して、アミノ酸配列が圧倒的に短く、取り扱いが簡便なことから、グラフェンを用いた匂いセンサの実用化に大きく貢献すると期待される。さらにペプチドは設計性が高く、化学合成できることから、多種多様な匂い分子に対する感応膜を形成可能である。将来的には、複数種の設計されたペプチドが1つのチップに搭載された GFET アレイを用いることで、多様な匂い分子を高い選択性で多次的に分析することが可能になると期待される。

●付記

本研究は、内閣府の戦略的イノベーション創造プログラム（第2期「フィジカル空間 デジタルデータ処理基盤」研究推進法人：NEDO）の支援を受けて実施された。

【参考文献】

1. Dai, Changhao, Yunqi Liu, and Dacheng Wei. "Two-Dimensional Field-Effect Transistor Sensors: The Road toward Commercialization." *Chemical Reviews* (2022): 122, 11, 10319–10392.
DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00924>
2. Li, Peiying, et al. "Fibroin-like peptides self-assembling on two-dimensional materials as a molecular scaffold for potential biosensing." *ACS applied materials & interfaces* 11.23 (2019): 20670-20677.
DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.9b04079>
3. Sun, Linhao, et al. "Water stability of self-assembled peptide nanostructures for sequential formation of two-dimensional interstitial patterns on layered materials." *RSC advances* 6.99 (2016): 96889-96897.
DOI: <https://doi.org/10.1039/C6RA21244A>
4. Hayamizu, Yuhei, et al. "Bioelectronic interfaces by spontaneously organized peptides on 2D atomic single layer materials." *Scientific reports* 6.1 (2016): 1-9.
DOI: <https://doi.org/10.1038/srep33778>

【用語説明】

- (1) **ペプチド**：アミノ酸がペプチド結合によって短い鎖状に連なった分子。一般にアミノ酸の数が50未満のものをペプチド、50以上のものをタンパク質と呼ぶ。
- (2) **自己組織化**：分子や原子などの物質が、秩序を持つ大きな構造を自発的に作り出す現象。
- (3) **グラフェン電界効果トランジスタ (GFET)**：炭素原子一層からなるグラフェンをシリコン基板上に設置し、その両端の電極からグラフェンの電気伝導を計測できるトランジスタ。溶液中に設置した参照電極に電圧を印加することで、グラフェンの電気伝導を制御できる。

- (4) **主成分分析**: 多次元データのもつ情報をできるだけ失わずに、低次元空間に情報を集約する多変数解析の一種。
- (5) **バイオエレクトロニックノーズ (電子鼻)**: 匂い分子に反応する物質とセンシングデバイスを組み合わせて電氣的に匂いを検出する装置。

【論文情報】

掲載誌: *Biosensors and Bioelectronics*

論文タイトル: Designable peptides on graphene field-effect transistors for selective detection of odor molecules

著者: Chishu Homma, Mirano Tsukiiwa, Hironaga Noguchi, Mina Okochi, Hideyuki Tomizawa, Yoshiaki Sugizaki, Atsunobu Isobayashi, Yuhei Hayamizu

DOI: 10.1016/j.bios.2022.115047

【問い合わせ先】

東京工業大学 物質理工学院 材料系 准教授

早水裕平

E-mail: hayamizu.y.aa@m.titech.ac.jp

【取材申し込み先】

東京工業大学 総務部 広報課

E-mail: media@jim.titech.ac.jp

TEL: 03-5734-2975 FAX: 03-5734-3661